Beiträge zur Peptidsynthese

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Hohen Naturwissenschaftlichen Fakultät
der
Ludwig-Maximilians-Universität
zu München

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

vorgelegt
von
Gerhart FÜRST
aus
Flatschach
(Steiermark)

Oktober 1957

Berichterstatter: 1. Prof.Dr.W.GRASSMANN

2. Prof.Dr.R.HUISGEN

Tag der mündlichen Prüfung: 4.Dezember 1957.

Auszug

Teil I

Zur Darstellung von L- und D-Serin

In vorliegender Arbeit wird eine an O-Benzyl-N-formyl-DL-serin mit Brucin und Chinin vorgenommene Racematspaltung beschrieben.

Zuerst wurde O-Benzyl-DL-serin nach einem im hiesigen Institut entwickelten Verfahren (1) im Grossen synthetisiert. Die Formylierung der Aminogruppe des Serinäthers bot keine Schwierigkeiten.

Es wurde festgestellt, dass das Brucinsalz des O-Benzyl-N-formyl-D-serin wie auch das Chininsalz des O-Benzyl-N-formyl-L-serin in kaltem absolutem Alkohol schwerer löslich sind als die zugehörigen Alkaloidsalze der optischen Antipoden. Diese Löslichkeitsunterschiede konnten zur Trennung des Racemats in reine D- und L-Verbindungen herangezogen werden. Die Spaltung wurde an einem Mol (223,2 g) des N-formylierten Serinäthers durchgeführt. Aus dem inaktiven Material konnten 71,7 g (64 % d.Th.) des D- und 86,5 g (77,5 % d.Th.) des L-Serinderivates erhalten werden. Aus den Mutterlaugen, die bei der Umkristallisation der Alkaloidsalze angefallen waren, konnten noch 38,3 g racemisches Gemisch zurückgewonnen werden, sodass der Materialverlust etwa 10 % betrug. Die beiden, nach Abspaltung des Formyl- und Benzylrestes erhaltenen stereomeren Aminosäuren zeigten im Chromatogramm keine Verunreinigungen. Die Drehwerte bestätigten eine optische Reinheit von 97,5 % für D- und 98,0 % für L-Serin.

Teil II

Zur Darstellung von L-Leucyl-glycyl-L-lysin-hydrochlorid

Diese Arbeit ist eine Fortsetzung der Versuche, die über die Entstehung von basischen Nebenprodukten bei der Synthese von L-Leucyl-glycyl-L-lysin-hydrochlorid (aus Carbobenzoxy-L-leucyl-glycin und ε-Carbobenzoxy-L-lysin-benzylester-hydrochlorid, die Maskierungsgruppen wurden hydrogenolytisch entfernt) Aufklärung bringen sollten. Die Untersuchungen wurden an dem nach der Phos-

phorazomethode gewonnenen Tripeptid durchgeführt (2).
Nachdem feststand, dass die Ausgangssubstanzen frei von Verunreinigungen waren, wurde geprüft, ob ε-Carbobenzoxy-L-lysin-benzylester unter den Bedingungen der Peptidsynthese nach der GOLDSCHMIDTschen Phosphorazomethode (3), beeinflusst durch das Lösungsmittel Pyridin, vor der Peptidknüpfung mit Carbobenzoxy-L-leucyl-glycin teilweise polymerisieren kann. Hierdurch hätten im Endprodukt basische Polypeptide der Formel Leucyl-glycyl-$(lysin)_n$ (Leucin und Glycin sind in der basischen Nebenfraktion etwa im Verhältnis 1 zu 1 gegenüber 6,8 Lysin enthalten) auftauchen können. Hierzu wurden Polymerisationsversuche mit dem Benzylester in Pyridin allein und bei Zusatz von PCl_3 - dem zur Bildung des Phosphorazokörpers notwendigen Agens - unter verschiedenen Bedingungen vorgenommen, die aber alle negative Befunde erbrachten. Die Ursache, die letztlich zur Bildung der basischen Nebenprodukte führt, muss demnach in einem späteren Stadium der Synthese gesucht werden.

Bei einem abgewandelten Phosphorazoverfahren, bei dem Wasser zugesetzt werden musste, traten die basischen Nebenprodukte im Elektropherogramm - sie werden mehr zur Kathode hin abgelenkt als das Tripeptid selbst - wesentlich stärker auf. Sie wurden elektrophoretisch vom Hauptpeptid abgetrennt und einer quantitativen Aminosäurebestimmung (4) unterzogen. Das Verhältnis Leucin:Glycin:Lysin wurde etwa 1:1:10 gefunden.
Anhand aller Versuchsergebnisse wird ausführlich diskutiert, worauf das Auftreten der basischen Nebenprodukte zurückgeführt werden könnte und welche Schwierigkeiten sich der endgültigen Klärung dieses aufgegriffenen Problems entgegenstellen.

Teil III

Zur Frage der Herstellbarkeit optisch reiner Tripeptide nach der Phosphorazo- und Anhydrid-Methode

Bei der Synthese von Glycyl-L-phenylalanyl-L-alanin (über den Carbobenzoxy-dipeptidester und L-Alanin-methylster) nach der GOLDSCHMIDTschen Phosphorazomethode (5) konnte im hiesigen Institut (6) teilweise Racemisierung der carboxylendständigen Aminosäure des Kopfpartners festgestellt werden.
Um ein optisch reines Produkt zu erhalten, wurde die Darstellung des Tripeptids nach der WIELAND-BOISSONAS-VAUGHAN'schen Anhydridmethode, die die Erhaltung der optischen Aktivität garantiert (7) (8), durchgeführt. Hierbei wurde L-Phenylalanyl-L-alanin-methylester mit dem gemischten Anhydrid von Carbobenzoxy-glycin und Chlorkohlensäure-äthylester umgesetzt. Der erhaltene Carbobenzoxy-tripeptid-methylester wurde schonend mit n NaOH verseift. Vom Carbobenzoxy-tripeptid wurde die Maskierungsgruppe hydrogenolytisch (Wasserstoff/Palladiumschwarz) abgespalten.

Abbauversuche mit Carboxypeptidase (9) haben bewiesen, dass bei dem Tripeptid die optische Aktivität erhalten geblie en war.

L i t e r a t u r

1) F.DEUFEL, Diplomarbeit Univ.München 1954
2) G.FÜRST, Diplomarbeit Univ.München 1956
3) St.GOLDSCHMIDT u.H.LAUTENSCHLAGER, Ann.580, 68 (1953)
4) W.GRASSMANN, K.HANNIG u.M.PLÖCKL, Z.phys.Chem 299, 258 (1955)
5) St.GOLDSCHMIDT u.H.LAUTENSCHLAGER, Ann 580, 68 (1953)
6) E.WÜNSCH, Dissertation Univ.München 1956
7) J.R.VAUGHAN jr., Am.Soc.74, 6137 (1952)
8) J.R.VAUGHAN jr. u.J.A.EICHLER, Am.Soc.75, 5556 (1953)
9) A.RIEDEL, Dissertation Univ.München 1956

L e b e n s l a u f

Am 6. Oktober 1928 wurde ich als zweites Kind des Dipl.-Landwirts Walther FÜRST und seiner Gattin Helene, geb. Bsse. von GOTTESHEIM in Flatschach/Steiermark, geboren.

Die Volksschule und die ersten 3 Klassen der Oberschule absolvierte ich in Budweis/Südböhmen und kam dann mit meinen Eltern nach Prag. Von dort wurde ich als Schüler der 5. Oberschulklasse im Januar 1944 als Flakhelfer eingezogen. Im Mai 1945 geriet ich, aus Jugoslawien kommend, in tschechische Gefangenschaft. Ende 1946 wurde ich auf mein Gesuch hin aus der Tschechoslowakei ausgewiesen und kamm nach Torgau in Sachsen. Ein Jahr später kam ich nach Bayern und besuchte vom Flüchtlingslager Schwabach aus die 8. Klasse der Oberrealschule in Weissenburg/Bay. Dort konnte ich im Juli 1948 das Abitur ablegen.

Das Studium der Chemie begann ich im Winter-Semester 1948/49 an der Phil.-Theol-Hochschule in Dillingen/Donau. Nach 2 Semestern wechselte ich an die Phil.-Theol. Hochschule Regensburg über. Im Juli 1954 bestand ich an der Universität München die Diplom-Hauptprüfung und konnte in der Zeit von August 1954 bis Juni 1955 die Diplomarbeit unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. W. GRASSMANN am Max-Planck-Institut für Eiweiß- und Lederforschung in Regensburg ausführen. Anschliessend begann ich im gleichen Institut mit der Doktorarbeit, die ich im Mai 1957 abschliessen konnte.

Bis einschliesslich Sommer-Semester 1956 war ich an der Aussenstelle Regensburg der Universität München als ordentlicher Studierender eingeschrieben.